水曲柳中 *MYBL2* 基因表达特征分析

韩丹宇 [1]，于磊 [1,2]，韩朝君 [3]，张振峰 [3]，张旭 [1,2]，刘璋 [1,2]，詹亚光 [1,2*]
（1. 东北林业大学生命科学学院，哈尔滨 150036；2. 东北林业大学林木遗传育种国家重点实验室，哈尔滨 150036；3. 黑龙江省大海林林业局，黑龙江 牡丹江 157000）

摘要： MYB 转录因子家族是植物中最大的转录因子家族之一，参与植物生长、繁殖和代谢的各个时期。研究发现，MYB 转录因子能通过多种方式参与植物抗逆生长。该研究在水曲柳中克隆 *FmMYBL2* 基因，利用生物信息学分析其结构和表达特征，并构建 FmMYBL2 蛋白的系统进化树。对水曲柳幼苗进行低温胁迫、盐胁迫处理以及激素分子诱导处理（包括 ABA、IAA、GA3、JA、SA）。分别在 0、1、3、6、12、24、48 h 取样。利用实时荧光定量 PCR 对上述处理样品中 *FmMYBL2* 基因进行定量分析，并分析了 *FmMYBL2* 的时空表达特征。结果表明：克隆得到的 *FmMYBL2* 基因全长为 762 bp，编码 253 个氨基酸。FmMYBL2 蛋白是亲水性蛋白，氨基酸序列比对表明其与棉花同源关系较近。荧光定量分析表明，*FmMYBL2* 基因响应低温胁迫和盐胁迫，同时 ABA、IAA、GA3、JA、SA 共同调控该基因表达。在低温处理 1 h、盐胁迫 48 h 时 *FmMYBL2* 基因表达量最高，激素诱导后表达量持续波动，但能在短时间内迅速响应。*FmMYBL2* 基因在根、芽、花、种子中均有表达，雄花中的表达量最高。该研究结果为深入研究 *MYBL2* 基因功能和水曲柳抗逆生长的调控奠定基础。

关键词：水曲柳，MYBL2 转录因子，基因克隆，抗逆，生物信息学分析
中图分类号：S792.41　　　　**文献标识码：**A　　　　**文章编号：**

Characteristic analysis of *FmMYBL2* gene expression in *Fraxinus mandshurica*

HAN Danyu[1], YU Lei[1,2], HAN Zhaojun[3], ZHANG Zhenfeng[3], ZHANG Xu[1,2], LIU Zhang[1,2], ZHAN Yaguang[1,2*]
(1. *College of Life Sciences*, *Northeast Forestry University*, Harbin 150036, China; 2. *State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding*, *Northeast Forestry University*, Harbin 150036, China; 3. *Dahailin Forestry Bureau*, Mudanjiang 157000, Heilongjiang, China)

Abstract: The MYB transcription factor family is one of the largest transcription factor families in plants. The MYB family is involved in all stages of plant growth, reproduction and metabolism. Studies have found that MYB transcription factors can participate in plant stress resistance growth in a variety of ways. The *FmMYBL2* gene was cloned in *Fraxinus mandshurica*, and its structure and expression characteristics were analyzed using bioinformatics. A phylogenetic tree of FmMYBL2 was constructed. Low temperature, salt and hormone molecules (including ABA, IAA, GA3, JA, SA) were used to induce *Fraxinus mandshurica* seedlings. Samples were taken at 0, 1, 3, 6, 12, 24, and 48 h. Quantitative analysis of *FmMYBL2* gene in the treated samples. The temporal and spatial expression characteristics of *FmMYBL2* are analyzed. The results show that the *FmMYBL2* gene is 762 bp in length and encodes 253 amino acids. FmMYBL2 encoded a hydrophilic protein. Amino acid sequence alignment showed that it is closely related to *Gossypium hirsutum*. Quantitative fluorescence analysis shows that *FmMYBL2* gene responds to low temperature and salt stress. At the same time, ABA, IAA, GA3, JA, and SA jointly regulated the expression of *FmMYBL2* gene. The gene expression was the highest under low temperature treatment for 1 h

基金项目：国家重点研发计划课题（2017YF D0600605-01）；国家自然科学基金（31270697）；黑龙江省应用技术研究与开发计划项目（GA19B201）；东北林业大学大学生创新课题 (201910225165) [Supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YF D0600605-01); the National Natural Science Foundation of China (31270697); Applied Technology Research and Development Program of Heilongjiang Province (GA19B201); Undergraduate Innovation Program of Northeast Forestry University (201910225165)]。
作者简介：韩丹宇（1999-），女，本科生，研究方向为植物基因工程，(E-mail) handanyubio@163.com。
*通讯作者：詹亚光，博士，教授，研究方向为林木遗传育种，(E-mail) yaguangzhan@126.com。

and salt stress for 48 h. After hormone induction, the expression of this gene fluctuates continuously, but it can respond quickly in a short time. Expression of this gene has been observed in roots, buds, flowers and seeds but the male flowers have the highest expression. The results of this study lays the foundation for further studying the function of *MYBL2* gene and the regulation of stress resistance of *Fraxinus mandshurica*.

Key words: *Fraxinus mandshurica,* MYBL2 transcription factor, gene clone, stress resistance, bioinformatics analysis

近年来，随着全球环境不断遭到破坏，处于逆境中的植物数量急剧增加，逆境胁迫使得植物细胞大量脱水，膜系统功能紊乱（杨晓慧等，2006）对植物生长极其不利，所以研究植物抗逆途径是目前当务之急。MYB 转录因子家族与植物抗逆密切相关，是植物中最大的转录因子家族之一，参与植物生长繁殖的各个过程（Nguyen & Lee, 2016; Payne et al., 2000; Suo Jinfeng et al.，2003）。水曲柳 MYBL2 蛋白是一种 R2R3-MYB 蛋白，这类蛋白结构域是一种端粒结合蛋白，能参与植物的胁迫应答和激素诱导，还可与 bHLH 和 WDR 转录因子复合物结合调控花色素基因的表达（An Jian-Ping et al., 2019; Zhu Z et al., 2015）。研究发现，棉花 *GhMYB73* 基因、拟南芥 *AtMYB2* 基因可通过提高渗透胁迫抗性来提高植物耐盐性，同时一些参与 ABA 途径中的非生物胁迫诱导的相关基因转录水平也有显著提高（Yoo J H et al., 2005; Zhao Yanyan et al., 2019）。过表达 *AtMYB44* 基因对 ABA 诱导的气孔关闭反应更敏感，对干旱及盐胁迫的耐受性增强（Choonkyun Jung et al., 2008）；*AtMYB60* 基因在盐胁迫及 ABA 影响下表达受阻，植物生长受限。MYB 转录因子亦可参与水稻抵御逆境（罗成科等，2015）。除此之外，MYB 家族还有着调控花青素合成以抵抗逆境的功能。在 bHLH 突变体拟南芥中就发现 BoMYB2 转录因子与 BoHLHs 结合共同调控花青素的合成(Chiu L W & Li L, 2012)。花青素通过提高超氧化物 歧化酶、抗坏血酸氧化酶和谷胱甘肽还原酶的活性来提高寒冷诱导的抗性（Zhu J J et al., 2013）。成熟参数相近的红芒果和青芒果在冷藏三周后，红芒果因含有更多的花青素积累，而表现出对冷害更强的抗性（Sivankalyani V et al., 2016）。野生型拟南芥在接受外源 ABA 诱导时茎尖中的花青素不断积累，此现象依赖于 *AtMYB75* 基因及一些其他能被 ABA 诱导的基因（陈俊洁等，2019）。水杨酸和茉莉酸也对植物抗逆起着重要作用。水杨酸（SA）和茉莉酸（JA）可以通过加强植物自身的防御信号来诱导植物合成更多的防御类化合物，有助于植物抗逆。通过研究枸杞中 SA 结合蛋白 LcSABP 发现，LcSABP 通过提高内源性 SA 含量，促进活性氧的清除以及调节逆境相关转录因子的表达而抵御逆境(Li Qian et al., 2019)。JA 还可延长果蔬保存期（赵曼如等，2019）。JA 在使植物适应高光照和高温胁迫的组合中起着重要作用（Balfagón Damián et al., 2019）。

水曲柳（*Fraxinus mandshurica*）是木犀科落叶乔木，是东北地区珍贵的硬阔用材树种，并且是国家重点保护的野生植物之一。由于目前对多种抗逆途径的综合研究较少，所以本文对水曲柳中 *FmMYBL2* 基因进行了克隆和分析，并研究了水曲柳抗逆能力、激素诱导表达和不同部位表达，为水曲柳对逆境胁迫适应机制提供依据，对水曲柳资源的开发和优化具有重要的理论意义和实用价值。

1 材料与方法

1.1 材料的处理

1.1.1 非生物胁迫与激素诱导的取材

取实验室中由水曲柳种子种植，长势均一，并在温室中经恒温、恒湿、恒光强培养 45 d 的实生苗 150 株。因其幼嫩，次生代谢产物较少，故在进行诱导胁迫时利于检测基因表达量的变化。对其进行 4 ℃低温、200 mmol • L^{-1} NaCl 的胁迫处理，并用浓度均为 100 μmol • L^{-1} 的植物激素 ABA、GA3、IAA、JA、SA 分别进行激素信号诱导处理，而对照组不作任何处理。实验组和对照组分别在 0、1、3、6、12、24、48 h 时取样，并将样品放入液氮冷冻，置于-80 ℃的冰箱中保存。

1.1.2 水曲柳不同部位的取材

根、茎、叶取自上述培养 60 d 的实生幼苗 5 株。雄花、雌花、芽以及种子取自东北林业大学林场中不

同月份长势均一、良好的成熟水曲柳植株（共取自 5 棵树，至少重复三次）。在超净工作台中对材料进行消毒，以待后续检测 *MYBL2* 基因的表达量。对照组除消毒外同样不做任何处理。将消毒后的样品分别放入液氮冷冻，置于-80 ℃的冰箱中保存。

1.2 研究方法

1.2.1 选用的内参基因和算法

引入在水曲柳中表达量相对稳定的持家基因 TU（任小龙等，2015），以便于获得更加准确的基因表达量，同时也方便对数据进行比对校正。算法使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$（△CT 处理组-△CT 对照组）。

1.2.2 *FmMYBL2* 基因克隆方法

应用 Tris-CTAB 法分别提取样品根、茎、叶、芽、雄花、雌花、种子的 RNA（每次取各样品 0.5 g）。因 CTAB 与蛋白质和多糖类物质可结合形成复合物，利用有机溶剂分离该复合物与核酸，并加入沉淀剂，可以得到不同样品的 RNA。利用反转录试剂盒将得到的 RNA 反转录成 cDNA，然后将其与本实验室前期所测得的水曲柳转录组数据进行比对，根据 cDNA 序列设计引物（表 1），克隆 *MYBL2* 基因编码区全长（图 1）。进行多次 PCR（反应体系为 20 μL: 其中模板 cDNA2μL，正反引物各 1 μL, dNTP 1.6 μL, rTaq 0.2 μL, Buffer 2 μL, ddH_2O 12.2 μL），并通过凝胶回收纯化产物，应用 pMD18-T 载体连接后转化进入 JM109 感受态细胞，并在加有抗性的培养基上培养单菌落，选取多个菌落进行菌液验证，然后送至公司进行测序。

1.2.3 *FmMYBL2* 在响应逆境胁迫及激素信号表达下的分析方法

根据 *FmMYBL2* 基因序列设计荧光定量 PCR 引物（表 1），应用荧光定量 PCR 技术分别分析 *FmMYBL2* 基因在 4 ℃低温胁迫、NaCl 胁迫、IAA、ABA、GA3、JA、SA 激素诱导下的表达量。且样品均进行 3 次重复检测。利用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算表达量。

表 1 *FmMYBL2* 基因序列克隆以及荧光定量 PCR 的引物设计

Table 1 Design primer sequence for cloning *FmMYBL2* gene and quantitative real-time PCR

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	备注 Remark
FmMYBL2-F	5' -TTGGCTCAATGGGAAGGTCTCC -3'	基因克隆 Gene cloning
FmMYBL2-R	5' -TTATTTCATTTCCAGGCCTCTGTAGC- 3'	基因克隆 Gene cloning
qFmMYBL2-F	5'-TGCTGGCGTTCGCTTCCTAA-3'	定量 Quantitative
qFmMYBL2-R	5'-GAGACCATTTGTTACCAAGAAGACTG-3'	定量 Quantitative

2 结果与分析

2.1 基因克隆

克隆获得了 *FmMYBL2* 的基因序列（图 1），可知该基因全长 762 bp，编码 253 个氨基酸。

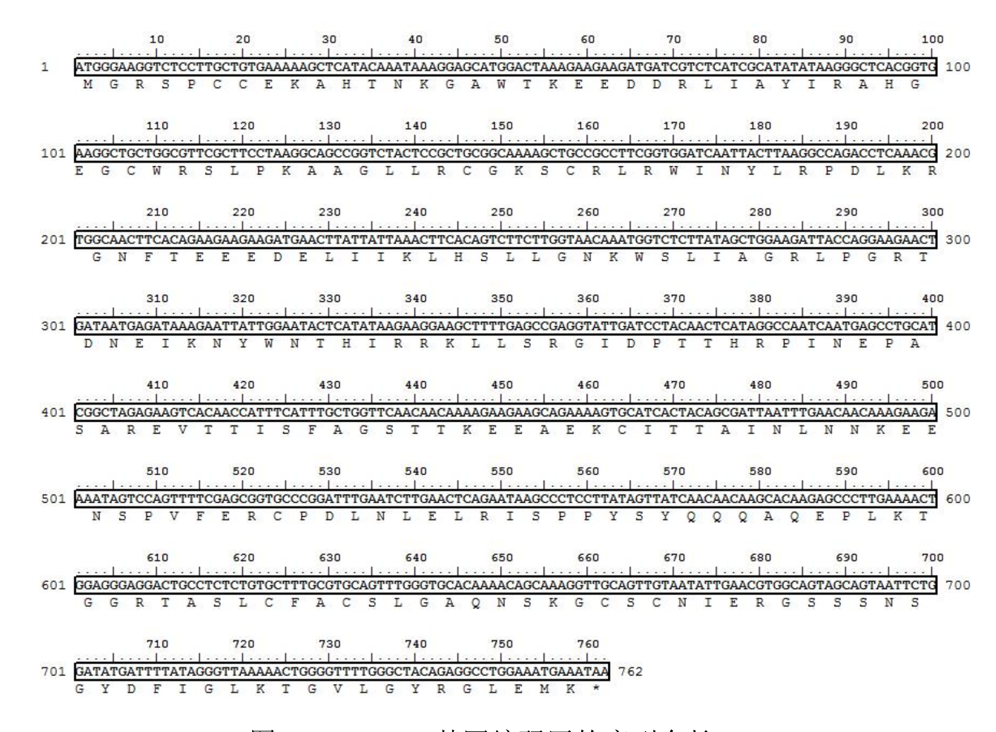


图 1 *FmMYBL2* 基因编码区的序列全长

Fig.1 Sequence length of the coding region of the *FmMYBL2* gene

2.2 氨基酸序列比对及构建基因进化树

应用 NCBI 里的 Protein BLAST 对 FmMYBL2 进行同源序列比对，利用相似度较高的同源序列构建基因进化树（图 2）发现 FmMYBL2 与棉花、巴旦木、可可、梅花等的氨基酸序列相似性较高，说明它们亲缘关系较近。

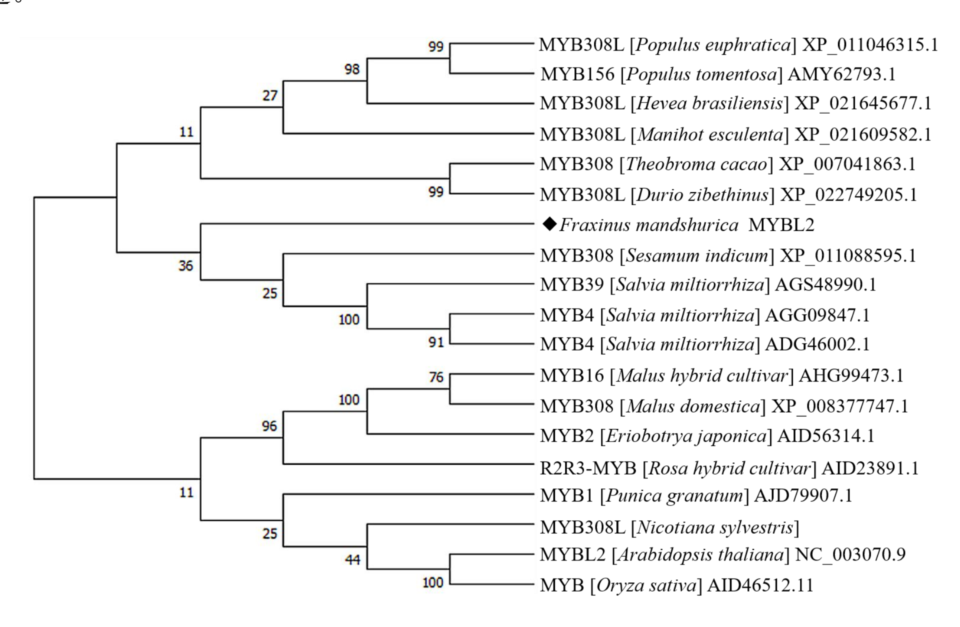


图 2 FmMYBL2 蛋白发育进化树的构建

Fig. 2 Construction of FmMYBL2 protein evolutionary tree

2.3 氨基酸理化性质的分析及 FmMYBL2 的疏水性预测

应用 ProtParam 在线工具分析预测 FmMYBL2 氨基酸的理化性质。结果表明，FmMYBL2 由 253 个氨基酸组成，其中有 29 个带负电的氨基酸残基（Asp + Glu），有 38 个带正电的氨基酸残基（Arg + Lys）。不稳定指数为 49.94，所以是不稳定蛋白质。蛋白质的疏水性对蛋白质的影响巨大，主要表现在蛋白质的构型、稳定性、以及其功能。应用 Proscale 在线工具对 FmMYBL2 蛋白进行疏水性分析（图 3）。分析表明，FmMYBL2 有 21 个亲水区域和 10 个疏水区域，总平均疏水性为-0.660，是亲水性蛋白。FmMYBL2 蛋白的疏水区域有利于蛋白质向内部折叠形成二级结构，进一步形成结构域，并有利于蛋白形成 α 螺旋，保证其自身稳定性。应用在线软件 ExPASy 中的 Compute pI/Mw 得出 FmMYBL2 蛋白质的等电点为 9.02，所以该蛋白在 PH 为 9.02 时最不稳定且溶解度最小，易于沉淀析出。同时蛋白质的黏度、渗透压、膨胀性以及导电能力均为最小。

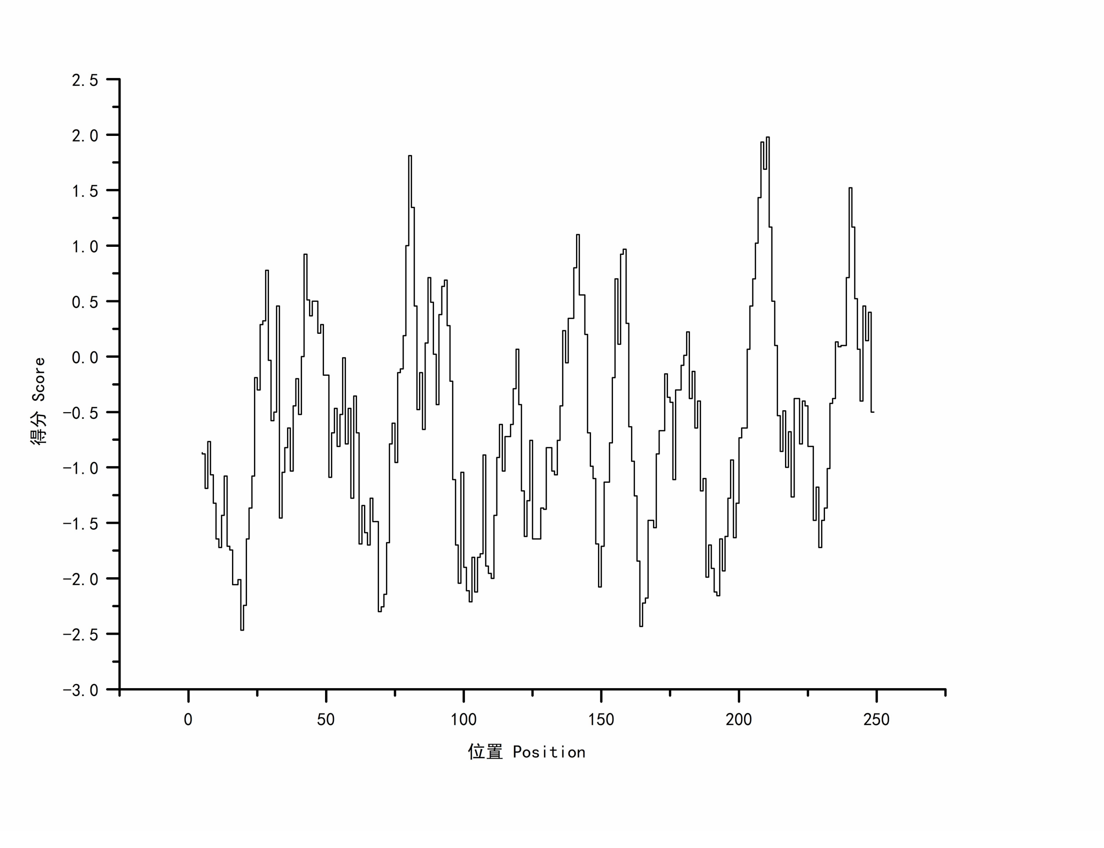


图 3 FmMYBL2 蛋白疏水性分析

Fig.3 Hydrophobicity analysis of FmMYBL2 protein

2.4 *FmMYBL2* 表达量在 4 ℃低温胁迫、NaCl 胁迫下的变化趋势

水曲柳幼苗经不同胁迫处理时，*FmMYBL2* 基因表达量均较对照（TU）上调表达，表达量随时间的变化而波动明显（图 4）。用 4 ℃低温处理水曲柳幼苗时，*FmMYBL2* 基因表达量在 0、1、3、6、12、24、48 h 总体呈现先下降后上升的趋势。在其被胁迫 1 h 后 *FmMYBL2* 相对表达量最高，达到对照组的 7 倍，而处理 6 h、12 h 时的表达量均低于对照组，其中 6 h 表达量只有对照组的 0.54 倍，12 h 表达量最低，仅有对照组的 0.10 倍。用 NaCl 胁迫处理水曲柳幼苗时，*FmMYBL2* 基因表达量总体呈现先下降后上升的趋势。胁迫处理 1 h 后，实验组基因表达量是对照组的 1.20 倍，而处理 3、6、12 h 后表达水平均低于对照组表达量，48 h 表达量最高，是对照组的 2.41 倍。

2.5 *FmMYBL2* 表达量在激素信号诱导下的变化趋势

水曲柳幼苗经不同激素信号诱导，表达模式变化不同（图 5）。用 ABA 处理水曲柳幼苗时，其 *FmMYBL2* 表达量波动明显。其中除处理 6 h 后 *FmMYBL2* 表达量达到对照组的 1.05 倍以外，其余处理时间基因表达均

被抑制，低于正常水平。其中实验组在经 ABA 诱导 1 h 后表达量最低，是对照组的 0.19 倍。用 IAA 处理水曲柳幼苗后，*FmMYBL2* 表达量的变化十分显著，其中诱导处理 24 h 后表达量达到峰值，是对照组的 11.80 倍。除处理 1 h 仅为对照组的 0.65 倍外，均超过对照组基因表达量。用 GA3 处理水曲柳幼苗时，3 h 达到最高表达量，是对照组的 2.68 倍，且处理 1、12、48 h 后低于对照组，3、6、24 h 时均高于对照组。JA 处理水曲柳幼苗（图 6）3 h 后，*MYBL2* 基因的相对表达量最高，3-6 h 表达量不断下降，而后又上升，表达量不断波动。SA 处理 1 h 后基因的表达量达到顶峰，而后不断波动，但始终维持在对照组 10 倍以内。

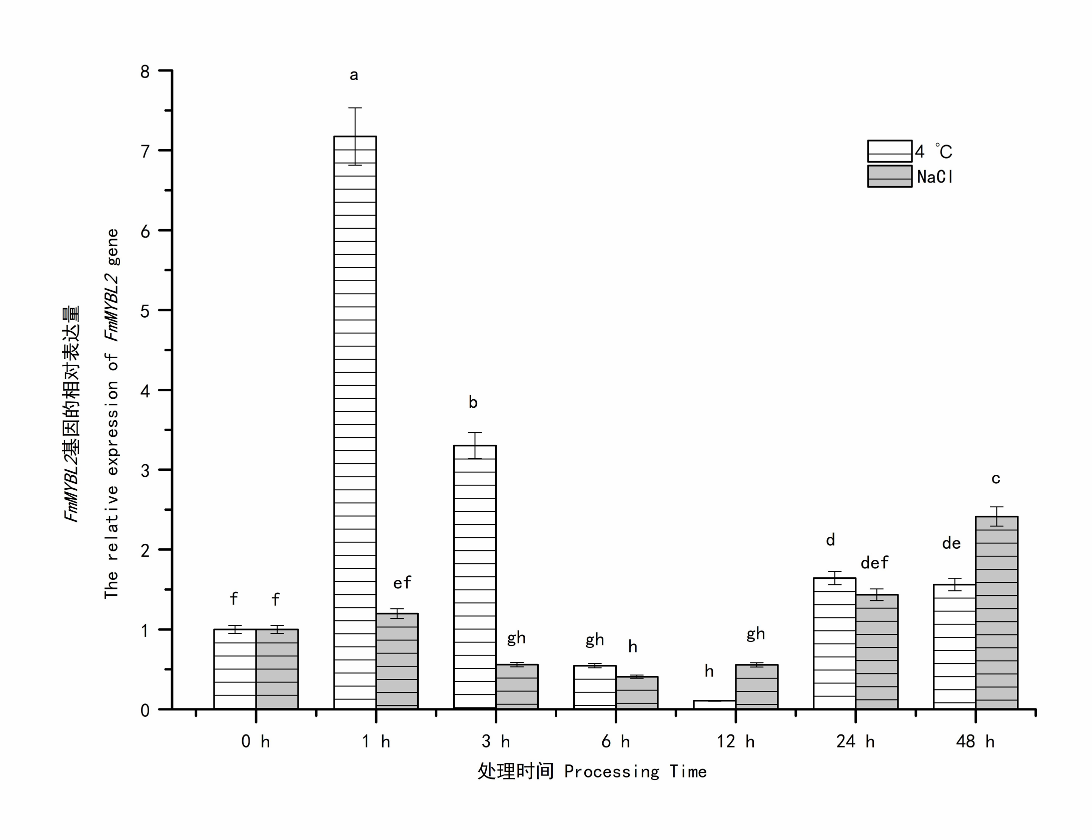


图 4 4 ℃、NaCl 胁迫下 FmMYBL2 在水曲柳中的相对表达量

Fig.4 Relative expression of FmMYBL2 gene in *F. mandshurica* under 4 °C and NaCl stress

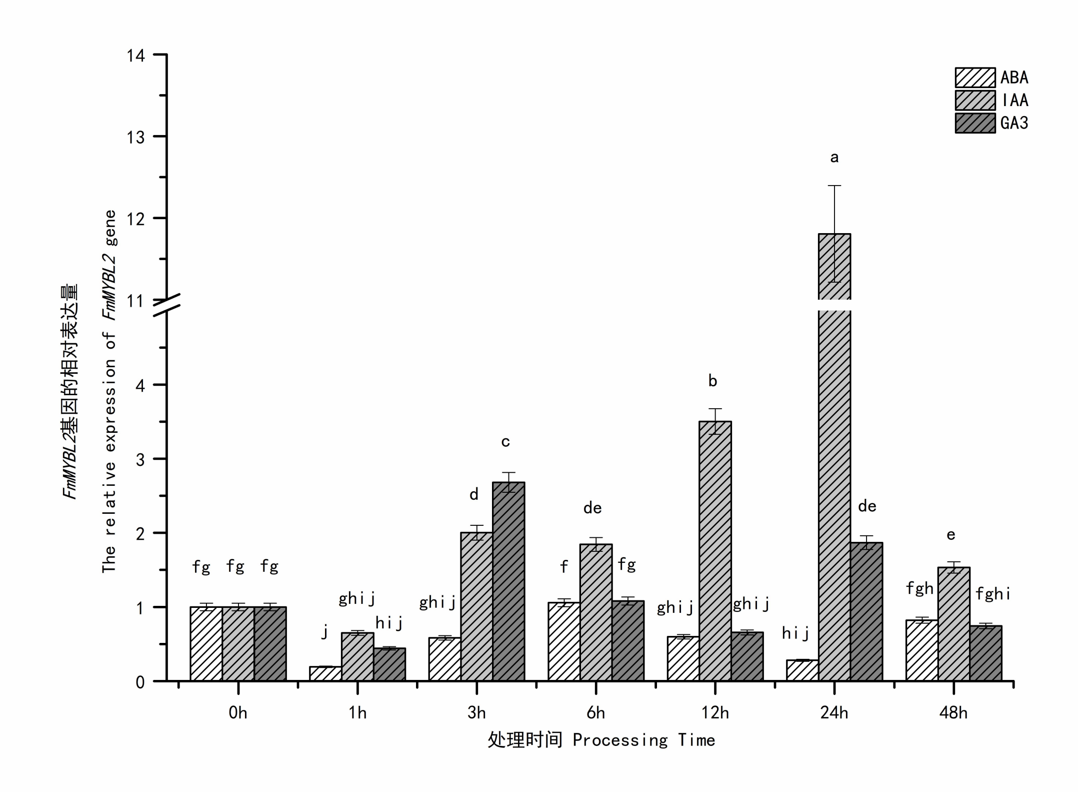


图 5 ABA、IAA、GA3 诱导下 *FmMYBL2* 的相对表达量

Fig.5 Relative expression of *FmMYBL2* induced by ABA, IAA and GA3

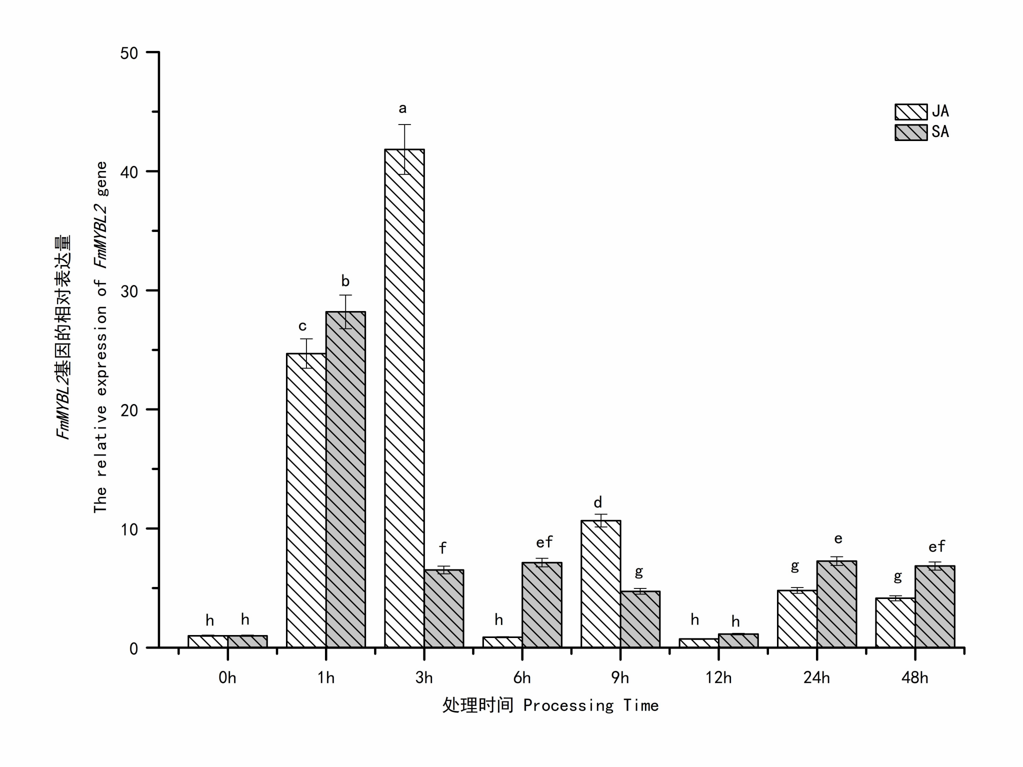


图 6 JA、SA 诱导下 *FmMYBL2* 的相对表达量

Fig.6 Relative expression of *FmMYBL2* induced by JA and SA

2.6 *FmMYBL2* 在水曲柳不同部位、月份的表达量分析

在测水曲柳不同部位的基因表达时（图 7），本实验选择的内参为水曲柳微管基因 TU。基因相对表达量的算法为 $2^{-\triangle CT}$（△CT＝基因的表达量-内参的表达量）。该基因在不同部位的表达量往往是不同的。经研究发现 TU 在水曲柳的花和芽中表达量较高，而在根茎叶中表达量较低。而 *FmMYBL2* 基因在茎叶中也几乎没有表达（设对照组数值为 1），在根中表达很少，在花中表达量较高。其中，*FmMYBL2* 在根中的表达量是 1.38 倍，在雌花中的表达量是 13.38 倍，在雄花中的表达量甚至达到了 20.78 倍。在测定水曲柳不同月份的基因表达时（图 8），仍然选择 TU 作为内参基因。研究发现 8 月的表达量最高，达到了对照组的 10 倍，9 月时则逐渐下降。

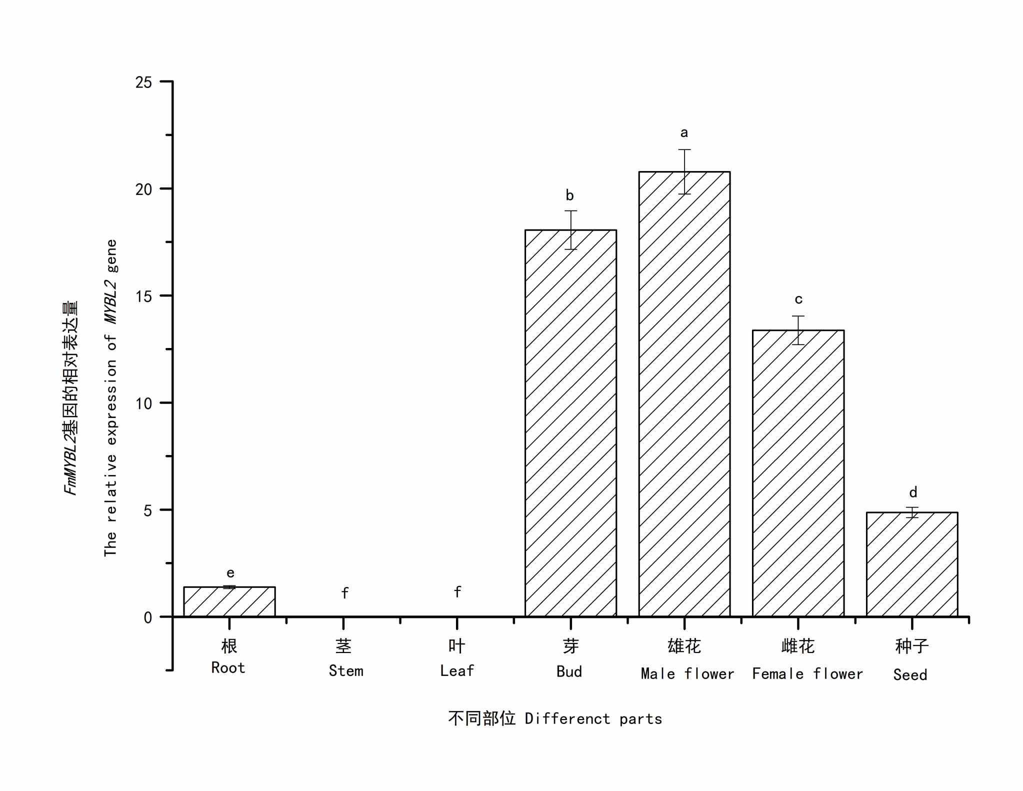


图 7 *FmMYBL2* 在水曲柳不同部位的表达量

Fig.7 The expression level of *FmMYBL2* in different parts of *F. mandshurica*

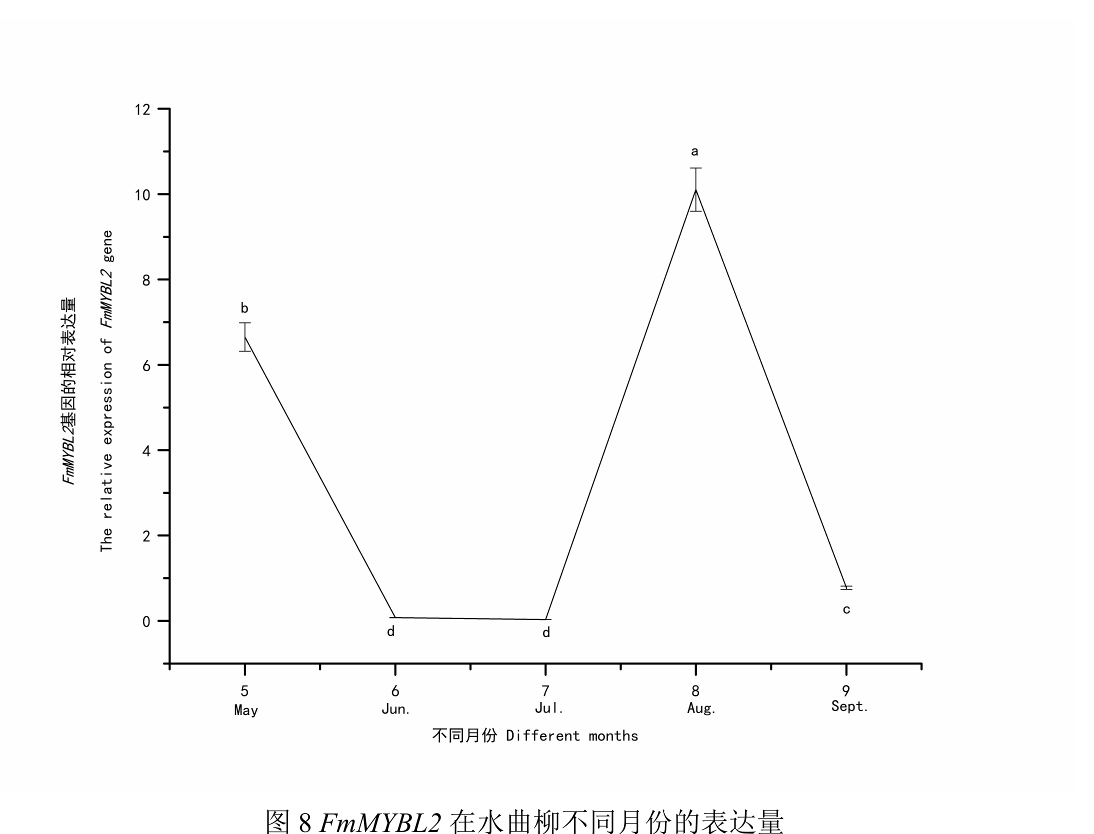


图 8 *FmMYBL2* 在水曲柳不同月份的表达量

Fig.8 The expression level of *FmMYBL2* in different months of *F. mandshurica*

3 结论与讨论

本实验通过生物软件分析 *FmMYBL2* 基因序列，得知其为亲水性蛋白，且不存在信号肽。氨基酸序列比对发现其与棉花等植物的氨基酸序列相似性较高，说明它们亲缘关系较近，可能有相似的作用规律。其次研究了水曲柳中 *MYBL2* 基因在不同模式下的相对表达量，并主要进行了寒冷和激素诱导的研究。

植物在低温胁迫下由于冷应激反应，会导致其与防御相关的蛋白含量降低（Makoto Hashimoto et al., 2007），对植物产生不良影响，所以本实验对 *FmMYBL2* 基因进行定量研究，观测其在冷应激反应下的表达及其对植物的影响。通过定量实验得出，*FmMYBL2* 在被低温胁迫 1 h 后表达量最高，12 h 时的表达量最低。基因表达量的极大改变说明其响应了寒冷胁迫，这与拟南芥 *MYB15* 基因表达量受冷胁迫波动类似（Agarwal M et al., 2006）。此外，用 NaCl 胁迫处理水曲柳幼苗时，*FmMYBL2* 基因表达量呈现先下降后上升的趋势。胁迫处理 48 h 后表达量最高，证明 *FmMYBL2* 基因有增加水曲柳抗盐性的能力，所以在处理后基因表达量迅速上升。此外，在植物激素 ABA、IAA、GA3、JA、SA 的诱导下，*FmMYBL2* 基因的表达也受到不同的影响，其中 *FmMYBL2* 对 IAA 的响应最为明显。经 IAA 处理 24 h 后的水曲柳幼苗中 *MYBL2* 表达量达到了对照组的 11.80 倍。而其在 ABA 和 GA3 的信号诱导下，该基因表达量也有显著的波动。说明 *FmMYBL2* 响应激素信号，可在植物因抵抗逆境胁迫而导致激素含量改变时响应，辅助植物抗逆。植物自身的水杨酸与茉莉酸就有着调控气孔关闭的生理功能，且植物伤信号能引起 JA 和 SA 含量的增加。本实验中在 JA 和 SA 诱导下 *MYBL2* 基因表达量升高，说明在植物因胁迫造成细胞损伤时，JA、SA 在被诱导含量增加的同时也会使 *FmMYBL2* 表达量上升，共同抵御胁迫。

本实验检测了水曲柳不同部位基因的表达量，研究发现 *FmMYBL2* 在花、芽中表达量最高，但在茎叶中表达量很少。因其在不同的组织和器官里表达量不同，说明 *FmMYBL2* 的表达具有组织特异性。在不同月份的表达时，本实验研究发现 5 月时基因的表达量高达 6 倍，可能是因为水曲柳的花期在 5 月左右，而花中花青素的积累使得 *FmMYBL2* 基因的表达量上升。而 7-8 月基因表达量逐渐上升，8-9 月逐渐下降，可能是

因为 7-8 月温度较适宜植物生长，不需要太多代谢产物抵抗逆境。综上所述，水曲柳 *FmMYBL2* 基因可参与植物抗逆境胁迫和激素信号的响应，不论其通过自身表达量的变化增强植物抗逆性，还是通过影响次生代谢产物花青素的含量，从而帮助植物抗逆，该基因在水曲柳生长发育中的作用都是十分重要的。水曲柳抗逆机制揭示对水曲柳繁育及栽培具有重要意义。

参考文献：

AGARWAL M, HAO Y, KAPOOR A, et al., 2006. A R2R3 type MYB transcription factor is involved in the cold regulation of CBF genes and in acquired freezing tolerance[J]. J Biol Chem, 281(49):37636-45.

AN JP, WANG XF, ZHANG XW, et al., 2019. An apple MYB transcription factor regulates cold tolerance and anthocyanin accumulation and undergoes MIEL1-mediated degradation[J]. Plant Biotechnol J, DOI:10.1111/pbi.13201.

BALFAGÓN DAMIÁN, SENGUPTA SOHAM, GÓMEZ-CADENAS AURELIO, et al., 2019. Jasmonic acid is required for plant acclimation to a combination of high light and heat stress[J]. Plant Physiol, DOI:10.1104/pp.19.00956.

CHEN JJ, MEI S, HU YR, 2019. Abscisic acid induces anthocyanin synthesis in Arabidopsis seedlings[J]. Guihaia, 1-18. [陈俊洁，梅松，胡彦如，2019. 脱落酸激素诱导拟南芥幼苗中花青素的合成[J/OL].广西植物:1-18. http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20190620.1133.002.html.]

CHIU L W & LI L, 2012. Characterization of the regulatory network of BoMYB2 in controlling anthocyanin biosynthesis in purple cauliflower[J]. Planta, 236(4):1153-1164.

CHOONKYUN JUNG, JUN SUNG SEO, SANG WON HAN, et al., 2008. Overexpression of AtMYB44 enhances stomatal closure to confer abiotic stress tolerance in transgenic arabidopsis[J]. Plant Physiol, 146(2):623-635.

MAKOTO HASHIMOTO & SETSUKO KOMATSU, 2007. Proteomic analysis of rice seedlings during cold stress[J]. Proteomics, 7(8):1293-1302.

LI QIAN, WANG GANG, GUAN CHUNFENG, et al., 2019. Overexpression of LcSABP, an orthologous gene for salicylic acid binding protein 2, enhances drought stress tolerance in transgenic tobacco[J]. Front Plant SCI, DOI: 10.3389/fpls.2019.00200.

LUO CK，XIAO GJ，LI Q, 2015. Research advance of the transcription factors related to stress resistances in rice ［J］. Guihaia, 35(6):942-947. [罗成科，肖国举，李茜．水稻逆境相关转录因子研究进展［J］. 广西植物，2015，35(6):942-947]

NGUYEN NGUYEN HOAI, LEE HOJOUNG, 2016. MYB-related transcription factors function as regulators of the circadian clock and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. Plant Signal Behavior, 11(3):00-00.

PAYNE C T, ZHANG F, LLOYD A M, 2000. GL3 encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1[J]. Genetics (Print), 156(3):1349-1362.

REN XL, ZHAN YG, LIANG X, et al., 2015. qRT-PCR Analysis of gene expression of AG and SOC1 during flower development of *Fraxinus mandshurica* Rupr[J]. Bull Bot Res, 35(4):612-617. [任小龙，詹亚光，梁雪，等. 水曲柳花发育过程中 AG、SOC1 基因表达的 qRT-PCR 分析[J]. 植物研究, 2015, 35(4):612-617.]

SIVANKALYANI V, FEYGENBERG O, DISKIN S, et al., 2016. Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance[J]. Postharvest Biol Technol, 111:132-139.

SUO JINFENG, LIANG XIAOE, PU LI, et al., 2003. Identification of GhMYB109 encoding a R2R3 MYB transcription factor that expressed specifically in fiber initials and elongating fibers of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. BBA-BiomembraneS, 2003, 1630(1).

YOO J H, PARK C Y, KIM J C, et al., 2005. Direct interaction of a divergent CaM isoform and the transcription factor, MYB2, enhances salt tolerance in Arabidopsis [J]. J Biol Chem, 280(5):3697-3706.

ZHAO MR, HU WZ, YU J X, et al., 2019. Research progress on effects of methyl jasmonate on resistan

ce, antioxidant activity and quality of fruits and vegetables[J]. Sci Technol Food Ind: 1-8. [赵曼如，胡文忠，于皎雪，等. 茉莉酸甲酯对果蔬抗性、抗氧化活性及品质影响的研究进展[J/OL].食品工业科技:1-8. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.ts.20191015.0904.002.html.]

ZHAO YY, YANG ZE, DING YP, et al., 2019. Over-expression of an R2R3 MYB Gene, GhMYB73, increases tolerance to salt stress in transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Sci, 28-36, DOI:10.1016/j.plantsci.2019.05.021

ZHU JJ, LI YR, LIAO JX, 2013. Involvement of anthocyanins in the resistance to chilling-induced oxidative stress in *Saccharum officinarum* L. leaves[J]. Plant Physiol Biochem, 2013, 73(6):427-433.

ZHU Z, WANG H, WANG Y, et al., 2015. Characterization of the cis elements in the proximal promoter regions of the anthocyanin pathway genes reveals a common regulatory logic that governs pathway regulation[J]. J Exp Bot, 66(13):3775.